



Naturlig plantebeskyttelse mod skimmelsvampe

Schou, C.; Egsgaard, H.

Published in:
Kartoffelproduktion

Publication date:
2000

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link back to DTU Orbit](#)

Citation (APA):
Schou, C., & Egsgaard, H. (2000). Naturlig plantebeskyttelse mod skimmelsvampe. *Kartoffelproduktion*, (6), 20-23.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Naturlig Plantebeskyttelse mod Skimmelsvampe - kan kartoffelplanten forsvare sig selv?

i Kartoffelproduktion, nr. 6, 20 – 23, 2000

Christian Schou og Helge Egsgaard
Afdelingen for Plantebiologi og Biogeokemi,
Forskningscenter Risø.

Indledning

Fem kartoffelsorter med varierende modstandsevne overfor kartoffelskimmel har gennem 1999/2000 været dyrket i vækstkamre og drivhuse for at undersøge bladoverfladernes struktur og kemiske sammensætning som følge af udviklingstrin, placering på planten m.m. Formålet har været at beskrive de enkelte sorters barriereegenskaber overfor angreb fra kartoffelskimmelsvamp (*Phytophthora infestans*, PI), via kemisk analyse af overflade komponenter. Projektet er støttet af forskningsprogrammet "Plantekvalitet og produktionspotentiale for højbæringsgrøder".

Markforsøg

I foråret 2000 startede et markforsøg med de samme kartoffelsorter. De fem sorter blev plantet i parceller af (l x b) 12m x 6 m = 72 m². Det samlede forsøgsareal var således 5 x 72m² = 360m². Parcellerne blev udlagt med så/sprøjte/vande spor ned gennem midten af den enkelte parcells bredde. Parcellerne havde ikke nyligt været anvendt til kartoffel eller tomat dyrkning.

Projektet har modtaget læggekartofler fra Danespo som har stillet sorterne Godiva (modtagelig), Nicola (middel resistent) og Sarpo peak (meget resistent) til rådighed. Landbrugets Kartoffelfond har bidraget med sorterne Danva (middel resistent) og Nortena (resistent).

Markforsøget havde til formål at bekræfte de tidligere resultater, der var opnået under kontrollerede betingelser i væksthuse. Derfor blev det besluttet ikke at anvende noget sprøjteregime under planternes vækst. Parcellerne blev luget regelmæssigt. Bladmaterialet blev indsamlet på forskellige tidspunkter af planternes udviklingsstadiet og anvendt til analyserne i laboratoriet.

Efter ca. tre måneders vækst bliver planterne angrebet af en skimmelsvampe infektion. Planterne var på dette tidspunkt ca. 2 fod høje. I løbet af en lille uge visner den meget modtagelige sort Godiva. De mellemresistente sorter Nicola og Danva er

noget medtagne, med gullige blade og store mørke pletter, medens de resistente sorter Nortena og Sarpo Peak ikke er påvirkede af angrebet.

Undersøgelserne har omfattet bl.a. elektronmikroskopi af bladoverfladen. Dette for at få belyst eventuelle fysiske sortsforskelle i relation til en infektion med skimmelsvampe. Endvidere blev bladene afvasket med forskellige organiske opløsningsmidler for at isolere forbindelser fra bladets overflade.

Sammensætningen af disse komponenter blev herefter analyseret nøje. Resultaterne herfra sammenholdes herefter med sorternes indbyrdes resistens. Herved kan de forbindelser klarlægges og identificeres, som kan yde en naturlig plantebeskyttelse.



Figur 1. Forsøgsparcel (Forskningscenter Risø) med 2 måneder gamle planter før PI infektion.

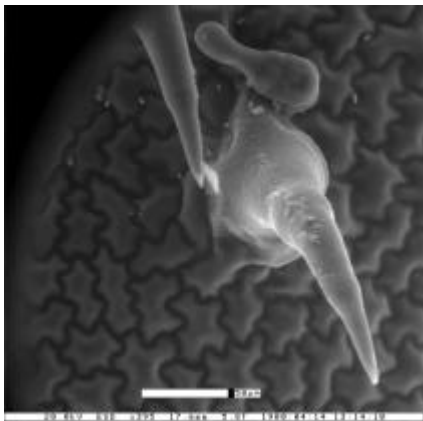
Fysisk undersøgelse

Signaleringen mellem skimmelsvamp og plante begynder ved mødet på planteoverfladen. Afbrydelse af signalkæderne medfører ofte en nedsat infektionsrisiko. For mange patogene svampearter er de processer, der aktiveres under infektionsprocessen godt beskrevet. Blokering af dannelsen af de enzymer, der indgår i svampenes angreb, repræsenterer et eksempel på nedsættelse af infektionsrisikoen.



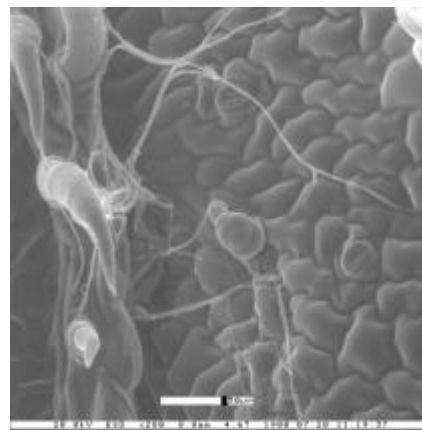
Figur 2. Forsøgsparcel (Forskningscenter Risø) efter PI infektion. Resistente og modtagelige sorter.

Scannings-elektronmikroskopet, SEM, bruges til at undersøge materialers overfladestruktur ved stor forstørrelse (op til ca. 100.000 gange). Forskningscenter Risø råder over et såkaldt environmental scanning elektron mikroskop, (ESEM). Dette kan anvendes til direkte undersøgelser af biologiske prøver, eksempelvis bladoverflader. Derved undgås en tidsrøvende og ofte vanskelig forbehandling af prøvematerialet. Undersøgelserne kan herved udføres under betingelser, der nærmer sig det naturlige.



Figur 3. ESEM af ikke inficerede kartoffel blad overflade. Bladhår synlig (den indsatte bjælke svarer til 0.050 mm).

Figur 3 viser et billede af en kartoffels bladoverflade studeret med ESEM. De karakteristiske hår på bladoverfladen er jævnt fordelt, og de har stor betydning for det mikromiljø svampesporene møder ved den indledende kontakt. Hårene rejser sig fra en "puslespils" mønstret bladoverflade. Figur 4 viser et billede af en skimmelsvamps mycelium på overfladen af kartoffelbladet. ESEM billederne viser ingen tegn på specifik mycelium vækst rettet mod læbecellerne. Dette sandsynliggør, at infektionsprocessen realiseres via intakte overflader.



Figur 4. ESEM af inficeret kartoffel blad overflade. Svampe mycelium, bladhår og læbeceller synlige (den indsatte bjælke svarer til 0.050 mm),

Kemisk undersøgelse

Mange planteoverflader er dækket med en kompleks blanding af et vandafvisende materiale som indeholder lipider og kulbrinter samt mindre mængder protein og kulhydrater. Denne overflade er voksagtig og udgør den overflade som svampesporene møder ved kontakt med planteoverfladen. Svampesporenes registrering af at være landet på en bladoverflade, kan meget vel skyldes bladeoverfladens fysiske/kemiske egenskaber.

En profilering af vokslagets egenskaber, kan derfor tjene til at vurdere svampesporenes mulighed for at identificere bladoverfladen.

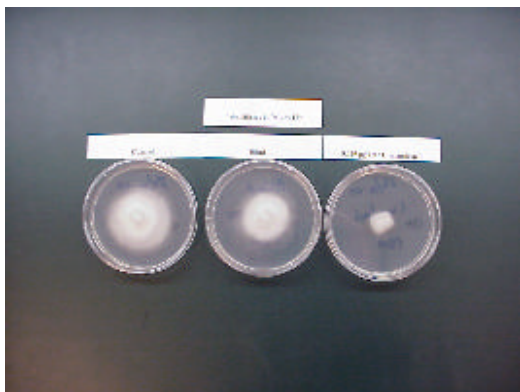
Vokssammensætningen fra sorter med varierende resistens er blevet undersøgt for at belyse forskelle og ligheder i sammensætningen. Vokslaget opløses efter kort tids ekstraktion med forskellige organiske opløsningsmidler, og efterfølgende ekstraktioner opløser komponenter fra gradvist dybere placeringer i bladet. Denne procedure er anvendt til undersøgelse af vokskomponenter fra blade i forskellig udviklingsstadier og placering på planten.

Det kan måske umiddelbart synes overraskende, at bladoverflader i almindelighed er dækket af simple, men tunge kulbrinter. Dette er målbart, og i mange tilfælde kan kulbrinterne (paraffin) ses som karakteristiske krystaller på bladoverfladerne ved mikroskopi.

De på kartoffelbladene fundne kulbrinter er alle relativt store, men afviger fra paraffinerne ved at være forgrenede. Det medfører relativt lave smeltepunkter og de vil derfor forefindes som en filmagtig coating på bladoverfladen. Dette er i udmærket overensstemmelse med, at der ikke kan iagttages krystalliseret voks på bladoverfladen ved ESEM, jf. figur 3 og 4.

Fedtsyrerne i bladekstrakterne viser sig at være fuldstændigt mættede, hvilket er et godt indicium for, at det isolerede materiale stammer fra overfladenære lag. Karakteristisk for alle sorter findes fedtsyrer med kædelængderne C_{14} – C_{24} , og med en overvægt af de lavere syrer. Det sidste er et overraskende resultat og i kontrast til normalt bladvoks, som er karakteriseret ved udpræget langkædede fedtsyrer. Denne afvigelse kan evt. skyldes, at vokslaget indeholder væsentlige mængder af mættet, lavmolekylært triglycerid (C_{14} – C_{18}). Dette aspekt er ikke afklaret og afventer nærmere analyse.

I forbindelse med lipid undersøgelser er der påvist kanelsyre i vokslaget. Kanelsyren er testet overfor udvalgte kartoffelskimmelsvampe. Figur 5 viser hvorledes relativt små mængder kanelsyre hæmmer skimmelsvampens vækst. I øjeblikket modificeres syren således, at den kan fastholdes på bladoverfladen, men samtidig kan frigøres under indflydelse af skimmelsvampens enzymapparat ved infektion. En sådan forbindelse kunne udgøre et effektivt naturligt plantebeskyttelsesmiddel.



Figur 5. Hæmningsforsøg med kanelsyre. PI vækst på næringsmedie. Til venstre ses 2 kontrol eksperimenter, medens der i eksperimentet til højre er tilført 9 µg fri kanelsyre pr cm^2 næringsmedie.

Analysen af fedtsyre-/ kulbrinte sammensætningerne viser ingen signifikant sortvariation. Den karakteristiske profil, der udgøres af de moderat forgrenede kulbrinter, kombineret

med overvægten af mættet lipid, med relativt små fedtsyrer, kan på den anden side være et af de første fysiske signaler til svampesporer om, at den har fundet en kartoffelplante.

En tredje interessant gruppe af naturstoffer, der findes i bladekstrakterne er sesquiterpenerne. Terpener har isopren som byggesten, som også er kendt som den formelle byggesten i en lang række andre naturstoffer, eksempelvis naturgummi. Vore undersøgelser viser tilstedeværelsen af lang række tæt beslægtede terpeners såsom caryophellen, germacren, samt sesquiphellandren. I litteraturen er denne type forbindelser rapporteret at have betydelig biologisk aktivitet. Sammenlignes bladekstrakternes sammensætning af de forskellige sorter, afsløres forskelle i profil og mængde af sesquiterpener.

Sammenfatning

ESEM analyse blev anvendt til undersøgelse af de fysiske barrierer imellem skimmelsvampe og bladoverflader både for modtagelige og resistente sorter. Bladoverfladen af de enkelte sorter varierer ikke signifikant. Ved infektion med spore fra skimmelsvampe viste de modtagelige sorter hurtigt tegn på mycelium vækst på bladoverfladen, medens resistente sorter forblev uforandrede. Dette kunne indikere at voks sammensætningen har stor betydning for infektionens processens udfald. Flere ekstraktionssystemer blev derfor afprøvet til analyse af vokslagets komponenter. Efterfølgende analyse af kulbrinte sammensætningen viste ingen forskel mellem sorterne. Planter med forskellige fysiske vækstforhold viste ligeledes ingen forskel i kulbrintemønsteret.

Analyserne afslørede tilstedeværelsen af mættede langkædede kulbrinter med betydelig forgrening i bladekstrakterne. Ekstrakternes indhold af esterbundne højere fedtsyrer viste sig at være mættede og med kædelængde fra C_{14} – C_{24} . Overvægten af de korte kæder er overraskende.

Analyse af bladekstrakteres terpen fraktioner viste derimod en sortvariation. Identifikationen, der bygger på en udstrakt anvendelse af databaser, viser tilstedeværelsen af sesquiterpener såvel som en række sesquiterpenalkoholer. Dette bekræfter resultater beskrevet i litteraturen. Sortsvariation findes primært blandt sesquiterpenerne.

Aktuelle undersøgelser

Ovenstående resultater er opnået siden projektets start i foråret 1999, og udgør fundamentet i en detaljeret beskrivelse af den kemiske vekselvirkning imellem skimmelsvampe og kartoffelbladens overflade.

I den kommende tid vil der blive fokuseret på at verificere og uddybe resultaterne, samt at få udvidet gruppen af forbindelser relateret til infektionsprocessen.

Sideløbende indledes anden fase af projektet med en analyse af skimmelsvampes forskellige enzymer og proteiner, som bliver anvendt under infektionsprocessen og under nedbrydning af bladoverfladen.

Der bliver således tale om en tostrengt strategi, som indeholder identifikationen af bladoverfladernes mulige forsvarsmekanismer og skimmelsvampenes nedbrydende forbindelser. Formålet med dette er på længere sigt at finde naturlige plantebeskyttelsesmidler imod patogene skimmelsvampe.